

· 研究报告 ·

二色桌片参的化学成分的研究(V)

二色桌片参糖蛋白抗肿瘤活性的研究

陈粤^{1,3}, 苏文金¹, 吴萍如², 方金瑞²

(1. 厦门大学生命科学学院 细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 厦门 361005
2 福建海洋研究所, 厦门 361012 3 汕头大学理学院生物学系, 汕头 515063)

摘要: 本文探讨二色桌片参糖蛋白 GPM II 和 GPM III 对小鼠移植性肿瘤 S₁₈₀的抑制作用以及对荷瘤小鼠肝脾等器官重量的影响。实验结果显示, 经蛋白酶水解后的糖蛋白 GPM III 在剂量 20^μg·g⁻¹时小鼠肉瘤 S₁₈₀有较显著的抑制作用 ($P < 0.05$), 抑瘤率达 48.8%。同时发现, GPM II 在 30^μg·g⁻¹剂量下可显著增加荷瘤小鼠的脾指数 ($P < 0.05$), GPM III 在 40^μg·g⁻¹剂量下能够显著降低荷瘤小鼠肝指数 ($P < 0.05$)。

关键词: 二色桌片参; 糖蛋白; 肉瘤 S₁₈₀ 抑瘤作用

中图分类号: R962.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-3461(2001)05-0001-03

Study on the anti-tumor activity of glycoproteins GPM II and GPM III extracted from sea cucumber *Mensamaria intercedens*

CHEN Yue, SU Wen-jin, FANG Jin-rui *et al*
(Xiamen University School of Life Science Key Laboratory of Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, Xiamen 361005)

Abstract In this study, two kinds of glycoproteins GPM II and GPM III were extracted from sea cucumber *Mensamaria intercedens*. Their anti-tumor activity to mice implanted tumor S₁₈₀ were evaluated *in vivo* by anti-tumor assay. The results indicated that GPM III could significantly inhibit the growth of S₁₈₀ cells implanted subcutaneously in mice ($P < 0.05$) at the dose of 20^μg·g⁻¹ per day × 10 with no sign of toxicity. The ratio of tumor inhibition is 48.8% in S₁₈₀ mice. The effects appear to be dose-related. On the other hand, GPM II increases the weight of spleen of mice with S₁₈₀ cells at the dose of 30^μg·g⁻¹ per day × 10. GPM III decreases the weight of liver of mice with S₁₈₀ cells at the dose of 40^μg·g⁻¹ per day × 10.

Key words *Mensamaria intercedens*; glycoprotein; anti-tumor activity; S₁₈₀

二色桌片参 [*Mensamaria intercedens* (Lamert)] 是一种盛产于福建闽南沿海的低值海参, 属海参纲枝手目沙鸡子科桌片参。它品性味甘、咸、温、无毒, 有补肾益精, 养血润燥之功效。吴萍茹等研究发现其干品中蛋白含量高达 85.98%, 而且还含有丰富的活

性蛋白多糖、糖蛋白、多糖和皂甙类物质, 具有较高的营养价值^[1,2]。最近, 通过对二色桌片参体壁进行水煮提取、分离、过 Sephadex G-200 柱层析, 获得二色桌片参糖蛋白 I (GPM II), GPM II 里的蛋白部分经酶解后得二色桌片参糖蛋白 II (GPM III); 化学

组成分析的结果表明, GPM I-H 和 GPM I-HI 可能都是一种由蛋白或糖蛋白与岩藻聚糖结合在一起的生物大分子物质, GPM I-HI 虽然是 GPM I-H 经酶水解后降解去除部分蛋白而得, 仍然具备糖蛋白的主要特征^[3]。本文报道 GPM I-H 和 GPM I-HI 对小鼠移植性肿瘤 S₁₈₀的抑制作用以及对荷瘤小鼠肝脾等器官重量的影响

1 材料与方法

1.1 糖蛋白 GPM I-H 和 GPM I-HI 的制备^[3]

取鲜二色桌片参体壁, 绞成糜状, 加 10~20 倍体积的水, 煮沸抽提 2 h, 95% 乙醇分级沉淀, 沉淀水溶解, 透析, 经 Sephadex G-200 柱层析纯化, 洗脱液浓缩, 2 倍体积乙醇沉淀, 抽干, 即得糖蛋白 GPM I-H, GPM I-H 里的蛋白部分经 37℃ 混合酶解后所得的产物是 GPM I-HI。提取而得的两种糖蛋白均为白色粉末, 稍有吸湿性, 溶解于水, 不溶解于有机溶剂

1.2 体内抑瘤实验^[4]

实验小鼠: BALB/c 清洁级 (SPF) 小鼠,

表 1 GPM I-H 对小鼠 S₁₈₀肿瘤抑制作用及对肝、脾指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, n= 10)

组别	剂量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	体重 (g)		瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	肝指数 ($0.1\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 体重)		脾指数 ($0.1\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 体重)	
		药前	药后						
对照组		19.05	23.98	1.32 \pm 0.56		629.69 \pm 78.76		107.96 \pm 22.96	
环磷酰胺组	20	19.18	19.41	0.55 \pm 0.29	58.6	550.15 \pm 110.51		67.02 \pm 13.37*	
GPM I-H	30	19.48	22.42	1.20 \pm 0.55	8.92	614.64 \pm 65.89		128.62 \pm 11.89	
GPM I-H	60	19.59	22.74	1.44 \pm 0.18	-9.07	585.43 \pm 60.13		120.59 \pm 20.97	
GPM I-H	120	20.00	23.04	0.94 \pm 0.32	28.5	561.19 \pm 104.41		123.98 \pm 38.51	

注: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ v_s 对照组

表 2 GPM I-H 对小鼠 S₁₈₀肿瘤抑制作用及对肝、脾指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, n= 10)

组别	剂量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	体重 (g)		瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	肝指数 ($0.1\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 体重)		脾指数 ($0.1\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 体重)	
		药前	药后						
对照组		21.01	24.98	1.36 \pm 0.47		701.45 \pm 74.24		126.33 \pm 15.23	
GPM I-HI	10	20.03	23.68	0.90 \pm 0.50	34.2	636.73 \pm 147.83		139.83 \pm 128.87	
GPM I-HI	20	20.01	23.63	0.70 \pm 0.35	48.8	677.11 \pm 116.32		134.36 \pm 41.99	
GPM I-HI	40	19.25	23.06	1.22 \pm 0.38	10.3	658.19 \pm 76.65		135.39 \pm 24.17	

注: * $P < 0.05$ v_s 对照组

6 周龄, 体重 18~22 g 雌雄兼用; 肿瘤瘤株: S₁₈₀ 腹水瘤细胞。厦门大学抗癌研究中心动物培养室提供。

选取正常 BALB/c 清洁级小鼠 90 只, 体重 18~22 g 雌雄兼用。无菌条件下抽取 S₁₈₀ 腹腔荷瘤小鼠的腹水, 用无菌的生理盐水稀释至 1:20 浓度的瘤细胞液 (1×10^6 cell/mL), 无菌条件下在小鼠右前肢腋皮下接种制备移植瘤模型 (每只 0.2 mL)^[1]。24 h 后小鼠随机分为 9 组, 每组 10 只, 每种糖蛋白分别设计 3 个剂量组, 其剂量设计是根据文献^[5]报道的剂量作参考的。此外阳性对照组注射环磷酰胺 (Cy) 20 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 阴性对照组注射等容积的生理盐水。小鼠每天注射给药 1 次, 连续 10 d 停药 24 h 后将小鼠称重, 脱颈椎处死, 解剖剥离瘤块, 电子分析天平称瘤重, 计算抑瘤率。同时取其肝脏、脾脏, 称重, 观察肝脏脾脏重量指数的变化, 对实验数据进行统计学分析 (t) 检验^[4]。

2 结果与分析

表 1显示,二色桌片参糖蛋白 GPM IH 对小鼠 S₁₈₀肿瘤无明显抑制作用 ($P>0.05$),在剂量 $60\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时甚至促进了肿瘤的生长。同时 GPM IH 在剂量 $30\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时可较明显地增加荷瘤小鼠脾指数 ($P<0.05$),而对小鼠肝指数无显著影响 ($P>0.05$) 并且用药后荷瘤小鼠肝指数有所降低。另外,阳性对照组小鼠在注射 $20\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 剂量的环磷酰胺后,小鼠 S₁₈₀肿瘤的生长受到显著的抑制 ($P<0.05$),抑瘤率为 58.6%,并且显著地降低荷瘤小鼠的脾指数 ($P<0.01$)。

表 2结果表明,混合酶解后所得糖蛋白 GPM IHI 对小鼠 S₁₈₀肿瘤有较显著的抑制作用,其中 $20\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 剂量的抑瘤效果最好,抑瘤率达到 48.8% ($P<0.05$)。而在 $10\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $40\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 两种剂量下无明显抑瘤作用 ($P<0.05$)。另外, GPM IHI 在剂量 $40\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时可明显降低荷瘤小鼠肝指数 ($P<0.05$),但对荷瘤小鼠脾脏重量的增加的影响与对照组比较无显著性差异 ($P>0.05$)。

3 讨论

前文实验表明,二色桌片参糖蛋白 GPM IH 和 GPM IHI 都是 L-岩藻糖和 L-岩藻糖硫酸酯连接而成的岩藻聚糖与蛋白或糖蛋白结合而成的生物大分子物质,其中经蛋白酶水解后所得产物 GPM IHI 所含的绝大多数氨基酸的含量都比 GPM IH 有所降低^[3]。有趣的是,实验结果揭示, GPM IH 和 GPM IHI 对小鼠移植性肿瘤 S₁₈₀的抑制作用有明显不同,经蛋白酶水解后的产物 GPM I-II 有明显的抑瘤作用,而且在 $20\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 剂量时抑瘤率达到 48.8%,而 GPM IH 在

$120\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 剂量时仅有 28.5%的抑瘤率。这提示二色桌片参体壁糖蛋白 GPM IH 和 GPM IHI 的抑瘤作用与其蛋白质分子大小和含量可能有一定的关系,另一方面, GPM IH 和 GPM IHI 两种糖蛋白对荷瘤小鼠肝、脾指数的影响也不同, GPM IH 在 $30\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 剂量下可显著增加荷瘤小鼠的脾指数, ($P<0.05$),而对荷瘤小鼠肝指数无明显影响 ($P>0.05$),但 GPM IHI 在除了在 $40\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 剂量下能够显著的降低荷瘤小鼠肝指数 ($P<0.05$)外,而对荷瘤小鼠脾指数没有显著的影响,这些结果似乎提示了, GPM IH 是一种有效的免疫增强剂,但抑制肿瘤的活性不够显著;当部分蛋白被水解后, GPM IHI 抑制肿瘤的作用增强,但作为免疫增强剂的作用却降低。至于糖蛋白 GPM IHI 的抑瘤作用与它对小鼠自身免疫系统的生物反应调节作用的关系,还有待于进一步研究

参考文献

[1] 吴萍茹,方金瑞,陈正明,等.二色桌片参化学成分研究Ⅰ.二色桌片参的化学成分分析[J].中国海洋药物. 2000 19(1): 17

[2] 吴萍茹,方金瑞,黄维真,等.二色桌片参化学成分研究Ⅱ.二色桌片参多糖-1一种新的岩藻聚糖[J].中国海洋药物. 2000 19(2): 4

[3] 吴萍茹,陈粤,方金瑞,等.二色桌片参化学成分研究Ⅳ.二色桌片参糖蛋白的分离性质与抗肿瘤活性的研究[J].中国海洋药物. 2000 19(5): 4

[4] 徐淑云,卞如濂.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991

[5] 顾谦群,方玉春.扇贝糖蛋白的化学组成与抗肿瘤活性的研究[J].中国海洋药物. 1998 3 23

(收稿日期: 2001-03-27)